

Л. І. Соколова

СТАН ЖИРНОКИСЛОТНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИННИХ МЕМБРАН У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ*Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця*

На сьогодні відомо значення деяких факторів ризику хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) в ініціації оксидативного стресу [9].

Встановлено, що порушення антипрооксидантної рівноваги, наслідком якої є утворення реактивних метаболітів кисню, ініціює ланцюгову реакцію окислення ліпідів [2]. Надмірна активація ліпідної пероксидації та посилення дестабілізаційних процесів на рівні ліпідного комплексу веде до порушення ліпід-білкової рівноваги та ініціації окислення білків [1, 2, 3]. Активація дестабілізаційних процесів на рівні ліпід-білкової упаковки негативно позначається на регулюючій та енергетично-пластичній функціях клітин. Надмірне посилення процесу окислення жирних кислот ліпідної упаковки мембран імунотоксичних клітин веде до послаблення імунної відповіді [2]. У разі ініціації процесу ліпідної пероксидації на рівні мембран ендотеліальних клітин розвивається ендотеліальна дисфункція, яка супроводжується гемодинамічними порушеннями [6, 7]. На цьому етапі мікроциркуляторна гіпоксія виступає додатковим чинником у виникненні дисбалансу в системі "вільнорадикальні реакції — антиоксидантна активність" і проявляється в надмірному утворенні реактивних метаболітів кисню [4, 8, 10]. Найпершими мішенями їх впливу стають мембрани всіх клітин. Посилення деструктивних процесів на клітинному рівні та порушення механізмів саморегуляції завершується накопиченням продуктів цитолізу, гіперпродукцією реактивних метаболітів кисню та прогресуванням деструктивних змін.

Отже, інтенсифікація продукції реактогенних вільних радикалів, ушкодження "ліпідно-білкової платформи" біомембран, порушення функціональної активності імунотоксичних клітин, ендотеліоцитів та формених елементів крові є патофізіологічним чинником депресії імунної відповіді клітинного і гуморального типу, зниження кінетичних властивостей крові та посилення деструктивних процесів на рівні клітинних структур. Імунна толерантність, індукція запальних реакцій, гемореологічна нестабільність, посилення деструктивних процесів та блокування «біологічного фільтру» міжклітинного простору інгредієнтами цитолізу та продуктами дисметаболізму визначають ступінь вираженості патоморфологічних та функціональних змін у хворих на ХОЗЛ.

Вищезазначене дає підстави розглядати цю проблематику з позиції "причина — наслідок". Основним наслідком порушень жирнокислотного спектру ліпідної упаковки біомембран є структурна перебудова та порушення їх функціональної активності. Так, у разі дестабілізаційних процесів на рівні електронно-транспортного ланцюга внутрішньої мітохондріальної мембрани виникають цитоенергетичні порушення, як наслідок пригнічення метаболічних потоків, що забезпечують поступлення електронів на термінальну цитохромну ділянку дихаль-

ного ланцюжка. На етапі посилення структурної дезорганізації та функціональної недостатності мітохондріального апарату виникають передумови для активації вільнорадикального процесу. При цьому утворюється хибне коло, і процес набуває безперервного самопідтримуючого характеру, зупинити який можливо лише за умови нормалізації жирнокислотного спектру біомембран та відновлення їх функціональної активності.

Метою цього дослідження було встановити особливості порушень жирнокислотного складу ліпідної упаковки та їх вплив на ультраструктурну організацію клітинних мембран у хворих на ХОЗЛ.

Матеріали та методи дослідження

В динаміці обстежено 67 хворих на ХОЗЛ I–II стадій віком від 35 до 60 років. При діагностиці ХОЗЛ керувались даними наказу МОЗ України за № 128 від 19.03.2007 р.

Усім хворим проведено клінічне обстеження, а також додаткові методи дослідження.

Функція зовнішнього дихання оцінювалась шляхом дослідження форсованої життєвої ємності легень (ФЖЄЛ), об'єму форсованого видиху за першу секунду (ОФВ₁), індексу ОФВ₁/ФЖЄЛ.

Аналіз спектру жирних кислот проводився в ізотермічному режимі на хроматографі серії "Цвет-500" із полум'яно-іонізуючим датчиком. Екстракція ліпідів здійснювалась за методом Фолча. Гідроліз і метилювання вищих жирних кислот фосфоліпідів та визначення рівня вільного холестерину проводились за методом Синяка К. М. Екстракція метильованих жирних кислот і холестерину здійснювалась двічі за допомогою гексанефірної суміші. Кількісна оцінка спектру жирних кислот ліпідів проводилась за методом нормування площин. Доли жирних кислот визначались в процентах [5].

Ультраструктурна організація клітинних мембран досліджувалась у власній пластинці слизової оболонки бронхів шляхом проведення електронної мікроскопії на апараті ЕМБ-100БР. Матеріалом служили біопати слизової оболонки сегментарного бронха, які отримували під час проведення фібробронхоскопії. Біопат фіксували у 1 % розчині чотирьохокису амонію протягом 2-х годин на холоді. Зневоднювання об'єкту проводилось послідовно в етанолі зростаючої концентрації та в ацетоні, після чого він заливався сумішшю епона та ародита. Ультратонкі зрізи отримували на ультратонах LKB і Reicherd. Контрастування їх проводилось 2 % розчином уранію ацетату на 70 % етанолі впродовж 15 хвилин та цитратом свинцю впродовж 15 хвилин.

Матеріал проведених досліджень оброблено методом варіаційної статистики за критерієм достовірності Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення

При співставленні рівня жирних кислот фосфоліпідів мембран еритроцитів у пацієнтів I та II стадії ХОЗЛ не було виявлено суттєвої різниці серед показників ключових жирних кислот. У цьому зв'язку пацієнти I та II стадії ХОЗЛ були об'єднані і включені в основну клінічну групу.

Проведений аналіз жирнокислотного складу фосфоліпідів мембран еритроцитів виявив збільшення рівня насиченості ліпідного комплексу за рахунок збільшення міристинової жирної кислоти. Зростання сумарної величини насичених жирних кислот (Σ НЖК) є захисною реакцією, спрямованою на гальмування процесу ліпідної пероксидації та запобігання дестабілізаційних процесів на рівні біомембран (рис). Рівень міристинової жирної кислоти може слугувати своєрідним "маркером" функціональної активності системи антиоксидантного захисту.

Відзначено також достовірне зниження ненасиченості ліпідного бішара за рахунок вірогідного зниження рівня арахідонової жирної кислоти, що є підтвердженням надмірної інтенсифікації процесу ліпідної пероксидації та дестабілізації жирнокислотного складу ліпідного комплексу біомембран (рис. 1). Виявлене значне зниження рівня арахідонату, яке, очевидно, зумовлене перетворенням його в кінцеві продукти метаболізму, що веде до ініціації запальних реакцій та посилення деструктивних процесів на рівні клітинних структур. Зниження рівня ненасичених жирних кислот негативно позначається на біофізичних властивостях ліпідного комплексу та біомембрани в цілому. Мікрров'язкість останньої суттєво збільшується, що негативно позначається на її регуляторній, енергетичній та інших функціях. Більш того, порушення ліпід-білкової рівноваги та надмірне окислення ліпідів сприяють посиленню деструктивних процесів на рівні клітинних мембран та зниженню їх функціональної активності.

Жирнокислотний спектр ліпідної упаковки біомембран може слугувати своєрідним «маркером» їх ультраструктурної організації.

При електронномікроскопічному дослідженні біоптатів власної пластинки слизової оболонки бронхів виявлені порушення ультраструктурної організації на рівні клітинних структур, у тому числі їх плазматичних мембран (рис. 2, 3).

Відзначений деструктивний процес на більшій частині плазматичної мембрани негативно позначається на функціональній активності клітин. Так, виявлений локальний лізис плазматичних мембран імунопродуцентів — В-лімфоцитів не забезпечує в достатній мірі адекватну імунну відповідь (рис. 2). Зниження резистентності ліпідної упаковки плазматичних мембран ендотеліоцитів до вільнорадикального окислення супроводжується посиленням ретенції тромбоцитів та підвищенням тромбогенного потенціалу крові. Надмірна ліпідна пероксидація та порушення структурного гомеостазу мембран еритроцитів завершується погіршенням киснево-транспортної функції крові та посиленням активації механізмів коагуляції.

Структурно-функціональні порушення на рівні епітеліоцитів, ендотеліоцитів, імунокomпетентних клітин та формених елементів крові негативно позначаються на мукоциліарній системі, місцевому імунному захисті, а також гемомікроциркуляції та кисневотранспортній функції крові судин бронхіального дерева.

Висновки

1. У хворих на ХОЗЛ спостерігається жирнокислотний дисбаланс ліпідного комплексу клітинних мембран, зростання сумарної величини насичених жирних кислот, що зумовлено інтенсифікацією ліпідної пероксидації.

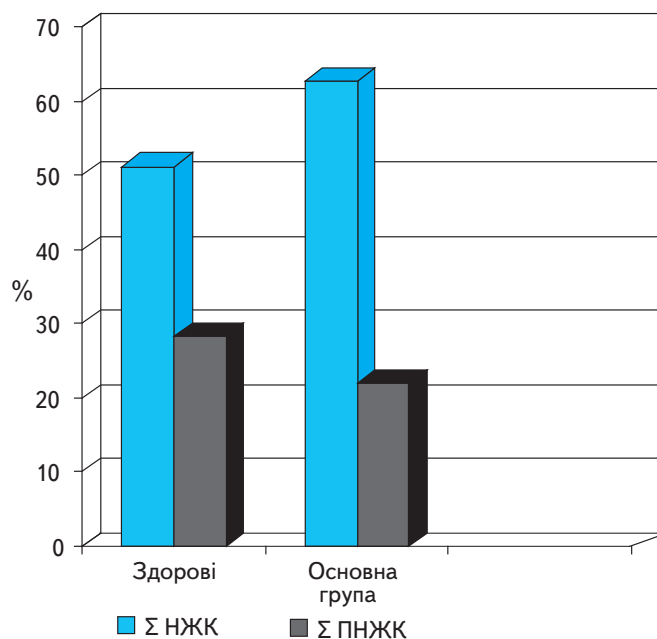


Рис. 1. Жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран еритроцитів (Σ НЖК- сумарна величина насичених жирних кислот, Σ ПНЖК- сумарна величина поліненасичених жирних кислот)

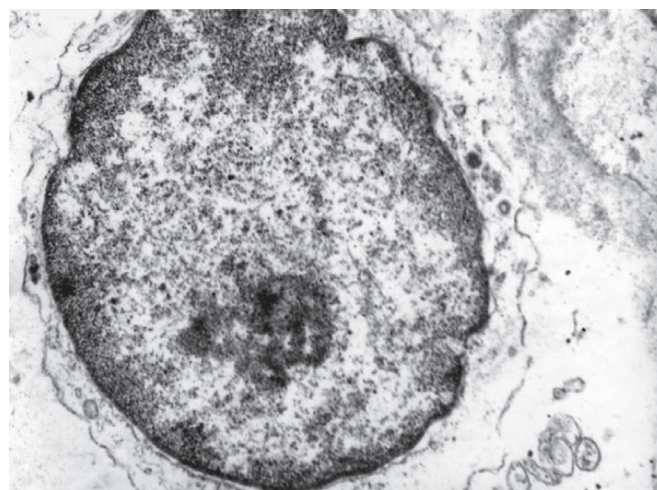


Рис. 2. Фрагмент біоптату слизової оболонки бронхів хворого на ХОЗЛ. В-лімфоцит з локальним лізисом плазматичної мембрани, $\times 14000$

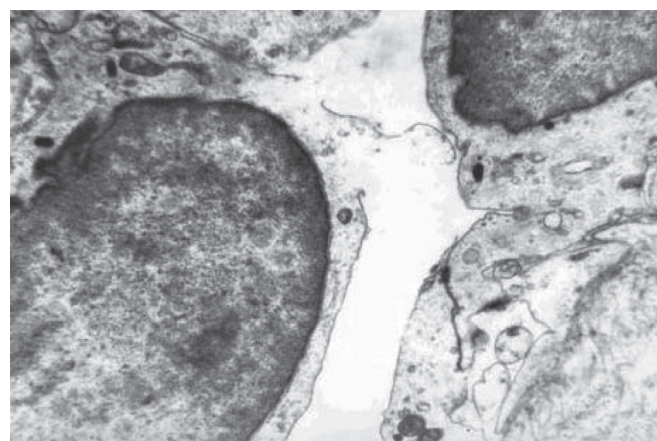


Рис. 3. Фрагмент біоптату слизової оболонки бронхів хворого на ХОЗЛ. Ендотеліоцит з ділянками руйнування плазматичної мембрани, $\times 10000$

2. Виявлені деструктивні зміни на рівні клітинних мембран є наслідком порушення жирнокислотного метаболізму та їх функціональної стабільності.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Афони́на, Г. Б.* Изменения липидного комплекса мембран и функции лимфоцитов у больных бронхиальной астмой [Текст] / Г. Б. Афони́на, Е. В. Русин, Т. С. Брюзина // Имуноло́гія та алергі́я. — 1998. — № 4. — С. 50–55.
2. *Афони́на, Г. Б.* Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ [Текст] / Г. Б. Афони́на, Л. А. Куюн. — К. : — 2000. — 286 с.
3. *Афони́на, Г. Б.* Радиочувствительность и мембраны лимфоцитов [Текст] / Г. Б. Афони́на, В. Г. Коляденко, В. И. Варус и др. — К. : — 2001. — 202 с.
4. *Владимиров, И. Н.* Митохондрии: окислительный стресс и мутации митохондриальной ДНК в развитии патологий, процессе старения и апоптозе [Текст] / И. Н. Владимиров // Рос. хим. журнал. — 2000. — № 6 (121). — С. 13–19.
5. *Гичка, С. Г.* Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца [Текст] / С. Г. Гичка, Т. С. Брюзина, Г. М. Вретык, С. Н. Рева // Укр. кардіол. журн. — 1998. — № 7–8. — С. 50–52.
6. *Дудка, П. Ф.* Морфофункціональна характеристика еритроцитів крові у хворих на хронічний обструктивний бронхіт [Текст] / П. Ф. Дудка, Л. О. Стеченко, Т. П. Куфтерева // Актуальні проблеми клінічної пульмонології : Матеріали науково-практичної конференції. — Київ, 2003. — С. 42–43.
7. *Дудка, П. Ф.* Патоморфологічні зміни ендотеліального шару як одна з причин порушення судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на хронічний обструктивний бронхіт [Текст] / П. Ф. Дудка, Л. О. Стеченко, Т. П. Куфтерева та інш. // Актуальні проблеми тромбозу і порушень гемостазу в клінічній медицині : Матеріали науково-практичної конференції. — Київ, 2003. — С. 30–31.
8. *Зенков, Н. И.* Окислительный стресс [Текст] / Н. И. Зенков, В. З. Ланкин, Э. Б. Меньшакова. — МАИК "Наука / Интер-периодика" — 2001. — 346 с.
9. *Broillet, A.* Efficacy of fenspiride on alleviating SO₂ induced chronic bronchitis in rats and allergic rhinitis in quinea-pigs [Text] /

A. Broillet, R. White, R. Ventrone, N. Giessinger // Rhinology. — 1988. — Suppl. 4. — P. 77–86.

10. *Snematsu, N.* Oxidative stress mediates tumor necrosis factor- α -induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes [Text] / N. Snematsu [et al] // Circulation. — 2003. — Vol. 107, № 10. — P. 1418–1423.

СТАН ЖИРНОКИСЛОТНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИННИХ МЕМБРАН У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Л. І. Соколова

Резюме

В роботі наведені дані щодо особливостей порушення жирнокислотного метаболізму на рівні клітинних мембран у 67 хворих на ХОЗЛ. Встановлено жирнокислотний дисбаланс ліпідного комплексу клітинних мембран, зростання сумарної величини насичених жирних кислот, що зумовлено інтенсифікацією ліпідної пероксидації. Виявлені деструктивні зміни на рівні клітинних мембран є наслідком порушення жирнокислотного метаболізму та їх функціональної стабільності.

STATE OF FATTY ACIDS METABOLISM AND ULTRA-STRUCTURE OF CELLULAR MEMBRANES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

L. I. Sokolova

Summary

The data from 67 COPD patients, considering peculiarities of fatty acids metabolism disturbances on cellular membranes level, were presented in this article. We revealed fatty acids misbalance in membrane lipid complex and an increase of total content of unsaturated fatty acids which was due to lipid peroxidation process. We also revealed destructive changes on the level of cellular membranes due to fatty acids metabolism disturbances and their functional stability.